

تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد

باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

قسم الكيمياء – كلية العلوم - جامعة ديالى

### الخلاصة

تم استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) لقياس كمية الكافيين في المشروبات الغازية لشركة بغداد وهي البيبسي، البيبسي دايت، السفن، السفن دايت، الميرندا تفاح والميرندا برتقال ، وتم انجاز التحليل الكروماتوغرافي لقياس الكافيين باستخدام ( اسيتونتريل : ماء ) كطور متحرك 50% وعمود C8 كطور ثابت وبتحسس مقداره 273 nm كطول موجي لمقياس طيف UV . وتم حساب قيم الانحراف القياسي النسبي (RSD%) وقد تراوحت هذه القيم لزمان الاحتجاز Retention time ما بين ( 0.104-0.515%) اما قيم (RSD%) لمساحة القمة Peak Area فكانت تتراوح بحدود (1.319-7.741%) .

مفاتيح البحث : الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء ، اسيتونتريل، C8 ، المشروبات الغازية ، الكافيين .

## **Determination of caffeine content in Baghdad Soft Drinks Company products using HPLC technique**

Nuha .A. j .Imran

Department of Chemistry, College of Science, University of Diyala.

### Abstract

A high- performance Liquid chromatography method was employed for the quantitative determination of Caffeine in several soft drinks produced in Baghdad company such as Pepsi, Pepsi diet, seven, seven diet, Miranda orange and Miranda apple .The chromatographic analysis of caffeine was carried out after their sequential elution with 50% (Acetonitrile: water) as mobile phase by reverse- phase HPLC technique C8 Column and UV detection was made at 273nm. Calculated (RSD%) values for retention time was obtained between (0.104-0.515%) and (RSD%) for Peak Area was (1.319-7.741%) .

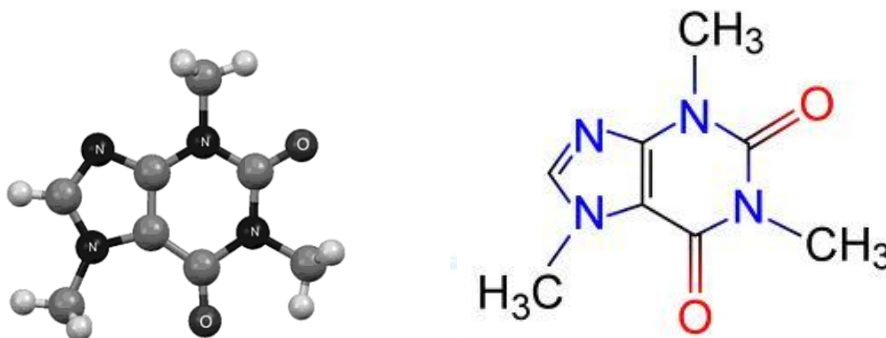
Key words: HPLC, Acetonitrile, C8 ,Soft drinks , Caffeine

## تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

المقدمة

الكافيين caffeine هو عبارة عن مركب عضوي يتكون من العناصر الشائعة مثل الكربون والهيدروجين والنيتروجين والأوكسجين ، والصيغة الجزيئية له هي  $C_8H_{10}N_4O_2$



والكافيين هو الاسم الشائع للمركب 1,3,7-trimethylxanthine . ويعتبر الكافيين من المركبات القلوية وهو شائع الوجود في نباتات الشاي وحبوب القهوة وألياف النباتات وكذلك البندق البني . كما يوجد في أكثر من ٦٣ نبات منتشر في مختلف أنحاء العالم [2,1] .

الكافيين caffeine هو منبه مباشر معتدل لكل مستويات الخلايا العصبية CNS والذي يحفز النظام العضلي للقلب ، وهو منبه للجهاز التنفسي المركزي وانيساط العضلة الشعيبية الملساء ، ومنبه ايضا للعضلات الإرادية وإفراز الحامض المعدي، ويزيد من سرعة جريان الدم في الكلية وهو مدر بولي معتدل [3].

تعتبر تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء طريقة بسيطة وسريعة ودقيقة وذات انتقائية وحساسية عالية ويمكن ان تستخدم لتقدير الكافيين في المركبات الدوائية مثل الباراسيتول من دون تداخلات (interference) [٤] .

تستخدم تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ( HPLC ) لفصل وتقدير الكافيين caffeine والثيوفيلين theophylline والثيوبرومين theobromine الموجودة في الأطعمة والمشروبات والمنتجات العشبية وبحدود كشف تصل الى ( ٠.٠٧ - ٠.٢ ppm ) [5] .

تحتوي الانواع المختلفة من الشاي على كميات عالية من الكافيين caffeine بالإضافة الى كل من Catechins و gallicacid ، وتعتمد نسب هذه المكونات على نوعية نباتات الشاي ودرجة التخمر خلال تحضيره [6].

ويضاف الكافيين المنبه الى المشروبات الغازية وهي مشروبات صناعية مضاف اليها مواد حافظة وغازات ونكهات تعطي الطعم المميز الذي يختلف من نوع إلى آخر وحسب النكهة المضافة وتتكون المشروبات الغازية والعصائر من الماء بنسبة ٨٥% من حجم المنتج والسكر الذي يكسب الطعم الحلو المرغوب فيه إضافة إلى الحوامض مثل حامض الستريك والفوسفوريك والكربونيك وان اختبار نوع الحامض وكميته تعتمد على نوع المنتج ، و تحتوي علبة الكولا سعة 330 مليلتر على 30-50 ملغرام من الكافيين ، وباستخدام تقنية HPLC يمكن قياس كمية من المواد المختلفة الموجودة في المشروبات الغازية بالإضافة الى الكافيين [7,8] ، وبنفس التقنية تم قياس الكافيين ومواد أخرى في بعض انواع الحلويات [9] .

٢- الجزء العملي

## ١-٢ الأدوات والأجهزة المستخدمة :

- جهاز الطرد المركزي EBA20 Heltch
- قناني حجمية ( 25,1000 mL )
- جهاز قياس الدالة الحامضية (pH meter) لشركة TWT - 7110
- جهاز HPLC لشركة Shimadzu UFLC- 20 AD
- كاشف Shimadzu Detector UV-Vis
- عمود الفصل : Column C8 column HiQ si 250mmx4.6lmm - اليابان
- ميزان الكتروني حساس Electronics Balance
- محقنة لجهاز HPLC syringe
- مدرجة مايكروية Eppendorf micro pipette

## ٢-٢ المحاليل والمواد المستخدمة

- ١- الكافئين بنقاوة 99% - شركة BDH
- ٢- بيبسي ، بيبسي دايت ، سفن ، سفن دايت ، ميرندا برتقال وميرندا تفاح ( منتجات شركة بغداد ).
- ٣- اسيتونتريل  $C_2H_3N$  - شركة Sigma Aldrich
- ٤- ماء لا ايوني Deionized water

## ٣-٢ ظروف HPLC

- العمود : C8
- سرعة الجريان : 1.5 min / ml
- الطور المتحرك : ( Acetonitrile : Deionized water ) 50:50
- كاشف المنطقة فوق البنفسجية UV detection: 273nm

## ٤-٢ المحاليل القياسية

تم تحضير المحلول القياسي (stock Solution) بإذابة 1 غرام من الكافئين في 1 لتر من الماء اللانيوني، منه حضرت سلسلة من المحاليل تراكيزها كالاتي : 40,80,120,160 ppm وكل المحاليل حضرت أنيا واستخدمت لقياس منحنى المعايرة للكافئين . وسحب 1 مللتر من عينات البيبيسي، والبيبيسي دايت، السفن، السفن دايت، الميرندا برتقال، والميرندا تفاح وخففت العينات 25 مرة وحضرت في قناني حجمية سعة 25 مللتر .

## ٢-٥. التحليلات الإحصائية

تم إجراء التحليلات الإحصائية باستخدام معالجة وتقدير البيانات الإحصائية لحساب المعدل الانحراف القياسي النسبي  $Y=bx+m$  [10]، وباستخدام برنامج Microsoft Office word تم حساب معامل القياس  $R^2$  ومعادلة الخط المستقيم

## ٣- النتائج والمناقشة

## ٣-١- منحنى المعايرة للكافيين Calibration Curve of Caffeine

كما مبين في (الشكل ١) والذي تم الحصول عليه من تكرارية تحليل كل تركيز من التراكيز المقاسة (40,80,120,160 ppm) ولأربع قراءات متتالية، حيث تم الحصول على معادلة الخط المستقيم وبالشكل التالي

$$y = 53816x + 66336$$

وكذلك قيمة  $R^2$  تدل وبوضوح على جودة مقبولة لهذه النتائج وكما مبين ادناه

$$R^2 = 0.9959$$

ومن خلال المعاملات الإحصائية (الجدول-١) تظهر تأكيد على مصداقية عالية لقيمة زمن الاحتجاز (retention time) وبدلالة الانحراف القياسي النسبي (RSD%) relative standard deviation حيث تراوحت قيمتها -0.15% (0.81%) وهذا مؤشر على استقرار عالية للجهاز من الناحية التشغيلية من خلال ثباتية كل من الضغط وسرعة الجريان وما يمثله هذين المؤثرين على كفاءة عمل الجهاز.

اما قيم peak area فقد تراوحت (RSD%) بحدود (2.12%-6.79%) وهي قيم ضمن الحدود المقبولة والشكل ٢-٢. يبين ثباتية زمن الاحتجاز لتركيز مختلفة من الكافيين.

## ٣-٢- تقدير الكافيين في المشروبات الغازية لشركة بغداد

لقد تم قياس الكافيين في البيبي، البيبي دايت، الميرندا برتقال والميرندا تفاح كما مبين في (الجدول ٢-٢) حيث تم اخذ القراءات التحليلية للكافيين وبتكرارية ثلاث مرات لكل نوع من الانواع المذكورة.

وتم حساب قيم الانحراف القياسي النسبي (RSD%) وقد تراوحت هذه القيم لزمن الاحتجاز Retention time ما بين (0.104%-0.515%) اما قيم (RSD%) لمساحة القمة Peak Area فكانت تتراوح بحدود (1.319%-7.741%) وهي قيم مقبولة ايضا. وتبين ان البيبي دايت يحتوي على 81.729 ppm (الشكل-٣-٣) وهي اعلى قيمة ما بين منتجات المشروبات الغازية لشركة بغداد، اما البيبي العادي فكانت قيمة الكافيين هي 71.974 ppm (الشكل-٣-٣) وتأتي بالدرجة الثانية من حيث قيمة الكافيين، بينما قيمته في الميرندا برتقال فكانت قليلة جدا حيث سجلت كمية واطئة وبالمقدار 2.656 ppm (الشكل-٣-٣) في حين كانت قيمته في الميرندا تفاح دون درجة تحسس الجهاز (الشكل-٣-٣) d، اما بالنسبة للسفن فقد حصلت تداخل قممي ما بين قيمة الكافيين ومكونات اخرى يحتويها هذا النوع (الشكل-٣-٤) a مما تعذر قياس تركيز الكافيين فيه أما السفن دايت كان غير حاوي على الكافيين (الشكل-٣-٤) b.

وللمقارنة بين نتائج البحث الحالي والبحث [11] والمتضمن في الجدول-٣، يمكن الاستدلال على ان كمية الكافيين في المشروبات البيبي دايت يكون أكثر من مثيلاتها في مشروبات البيبي الاعتيادي وان اختلاف الكميات بين البحثين هو طبيعيا باعتبار ان كمية الكافيين المضافة كمنبه الى المشروبات الغازية تعتمد على الشركة المصنعة.

٤ - الاستنتاج

باستخدام الظروف المثبتة في هذا البحث ، بالإمكان وبشكل يسير تقدير الكافيين في أي نوع من انواع المشروبات الغازية او العصائر او المشروبات الساخنة مثل الشاي والقهوة وكثير من المشروبات الطبيعية ، حيث تبين صلاحية عالية لعمود الفصل C8 في تنفيذ مثل هذه البحوث كما وان تقليل نسبة مذيب الاسيتونتريل الى 50% والمثبتة في هذا البحث بدل النسب العالية من هذا المذيب بالمقارنة مع بحوث اخرى يمكن اعتباره ذات بعد مهم من ناحية اختزال الكلف المصروفة في مثل هذه البحوث وبالتالي زيادة الجدوى الاقتصادية عندما يكون هناك تطبيق عملي لهذه الطريقة في وحدات السيطرة النوعية في مصانع من هذا النوع .

المصادر

1. Victor R. Preedy, Caffeine, chemistry, analysis, function and effects , published by Royal Society of Chemistry, Cambridge ,books.google.com,UK,( 2012) .
2. H.N.Wanyika, E. G.Gatebe, L.M.Gitu,E.K.Ngumba and C.W.Maritim, African Journal of Food Science Vol.4(6), pp.353-358, June ,(2010) .
3. Yuegang Z., Hao C. and Yiwei D., Talant 57, pp. 307-316,(2002).
4. Sharm R. C., Mahfuza M.and Mahbubul H. S., Asian J.pharm.Ana , vol.2:Issue 1, P 01-04, (2012) .
5. Branislava S., Vukosava D.M. , Nevena G., Rade I. and zika L., Journal of Chromatographic Science,Vol.46 pp.144-149, February ( 2008) .
6. V. Pavlova and S. Petrovska – Jovanovic, Acta Chromatographic, No.18, pp.157-167, (2007) .
7. Diane S. Aschenbrenner, Samantha J.Venable, Drug Therapy in Nursing, Wolters Kluwer, Lippincott,Williams & Wikins, books. google.com, (2009) .
8. عصام شاكر حمزة ، امير خضير عباس ، كريم ناظم جلعوط ، سهيلة غفوري علي و سندس علي جاسم International Journal Sciences and Technology, vol.6.No1, p 80-91, march (2011) .
9. Ursula W. R., Wener T., and Andreas W., J. Agric. Food Chem. 58, pp. 12216-12220,(2010) .
10. Douglas A.Akoog , Donald M. West, F. James Holler and Stanley R.Crouch Fundamentals of Analytical Chemistry, 8<sup>th</sup> edition, Brooks / Cole, adivision of Thomson,(2004) .
11. Mei M. A., Mawahib E., Mohammed I. T., Badawi A. Z. and Abdall A. E., Pakistan Journal of Nutrition 11(4), pp.336-342, (2012) .

تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

جدول - ١

نتائج المعاملات الاحصائية لمنحني المعايرة

| Sample No.    | Peak area | Retention time<br>Min. |
|---------------|-----------|------------------------|
| 40 ppm        |           |                        |
| 1             | 2014134   | 2.310                  |
| 2             | 2304815   | 2.321                  |
| 3             | 2105524   | 2.329                  |
| 4             | 2387563   | 2.352                  |
| Mean of areas | 2203009   | 2.328                  |
| RSD%          | 6.79%     | 0.66%                  |
| 80 ppm        |           |                        |
| 1             | 4758154   | 2.356                  |
| 2             | 4228431   | 2.356                  |
| 3             | 4811313   | 2.354                  |
| 4             | 4278017   | 2.347                  |
| Mean of areas | 4518978   | 2.353                  |
| RSD%          | 5.90%     | 0.15%                  |

تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

|               |         |       |
|---------------|---------|-------|
| 120 ppm       |         |       |
| 1             | 6645466 | 2.356 |
| 2             | 6159730 | 2.355 |
| 3             | 6133696 | 2.344 |
| 4             | 6171010 | 2.317 |
| Mean of areas | 6277475 | 2.343 |
| RSD%          | 3.39%   | 0.67% |
| 160 ppm       |         |       |
| 1             | 8796196 | 2.316 |
| 2             | 8980455 | 2.338 |
| 3             | 8489403 | 2.300 |
| 4             | 8903241 | 2.288 |
| Mean of areas | 8792323 | 2.310 |
| RSD%          | 2.12%   | 0.81% |

$$Y = 53816 X + 66336$$

$$R^2 = 0.9959$$

تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

$$y = 53816x + 66336$$

$$R^2 = 0.9959$$

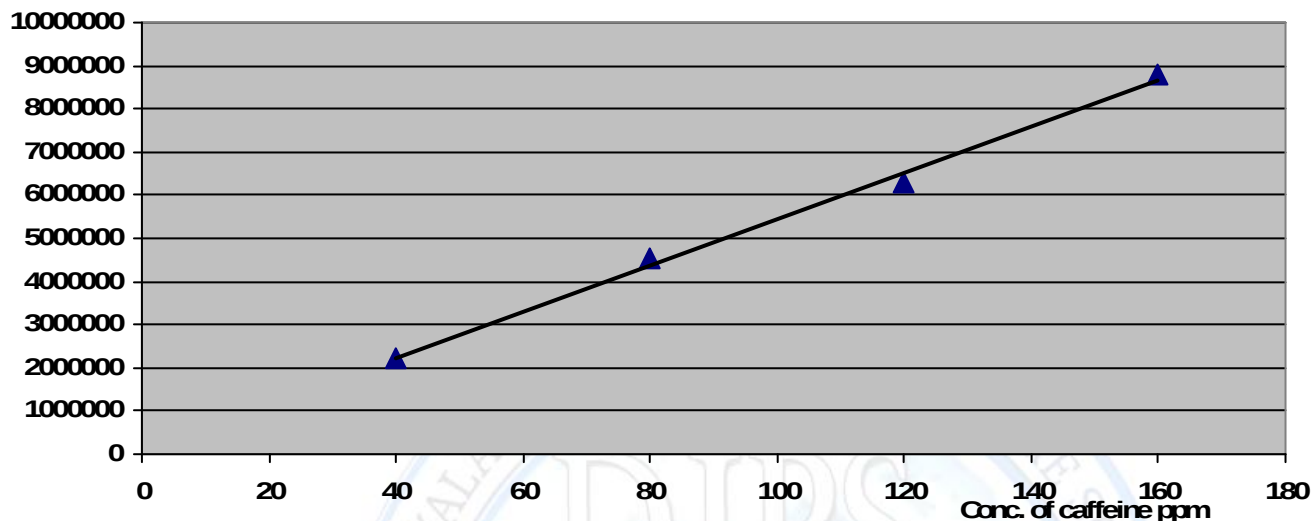


Fig-1 Calibration curve of caffeine

(الشكل - ١) منحنى المعايرة لتراكيز مختلفة من الكافيين

جدول - ٢

تركيز الكافيين في المشروبات الغازية لشركة بغداد

| Brand type | Caffeine Retention time | Caffeine Peak area | Conc. of Caffeine g / l |
|------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| Pepsi      |                         |                    | 71.974                  |
| 1          | 2.370                   | 217804             |                         |
| 2          | 2.348                   | 224945             |                         |
| 3          | 2.350                   | 221069             |                         |
| Mean       | 2.356                   | 221272             |                         |
| RSD%       | 0.421%                  | 1.319%             |                         |
| Pepsi diet |                         |                    | 81.729                  |
| 1          | 2.353                   | 225289             |                         |

تقدير كمية الكافانين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

|                |        |         |       |
|----------------|--------|---------|-------|
| 2              | 2.358  | 258399  |       |
| 3              | 2.353  | 243124  |       |
| Mean           | 2.354  | 242270  |       |
| RSD%           | 0.104% | 5.5849% |       |
|                |        |         |       |
| Miranda orange |        |         | 2.656 |
| 1              | 2.283  | 7945    |       |
| 2              | 2.289  | 8706    |       |
| 3              | 2.296  | 8466    |       |
| Mean           | 2.289  | 8372    |       |
| RSD%           | 0.232% | 3.1049% |       |
| Miranda apple  |        |         | Nil.  |
| 1              | 2.350  | 2423    |       |
| 2              | 2.347  | 2043    |       |
| 3              | 2.337  | 2090    |       |
| Mean           | 2.334  | 2185    |       |
| RSD%           | 0.515% | 7.741%  |       |

تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

(جدول- ٣)

مقارنة كميات الكافيين في المشروبات الغازية في البحث الحالي والمصدر ١١

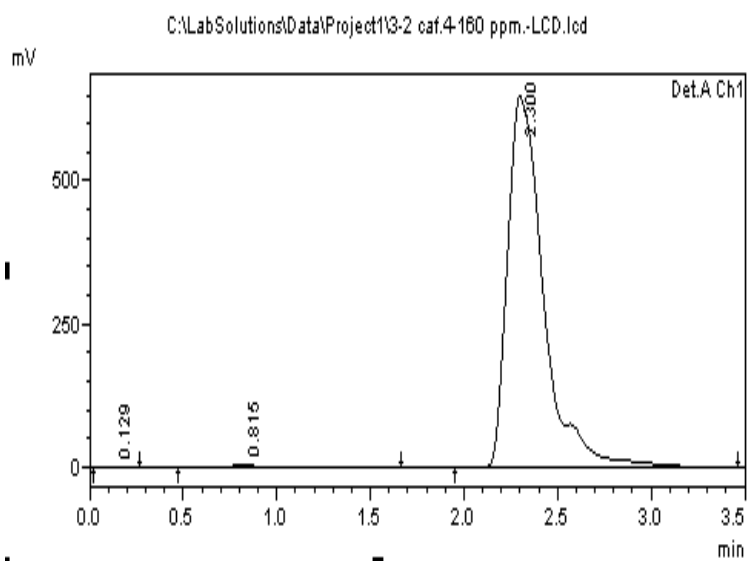
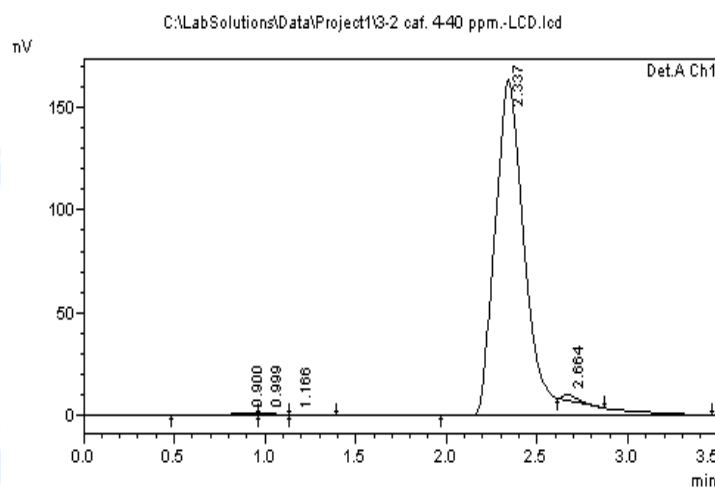
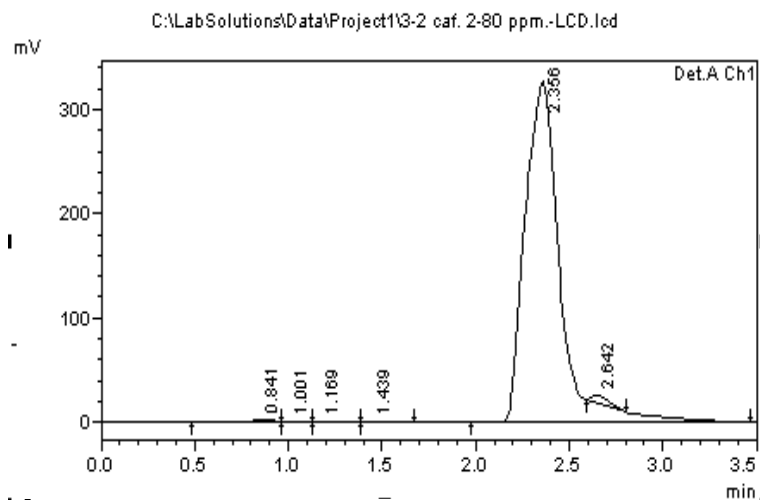
| Beverage type | Caff.conc.<br>ppm |
|---------------|-------------------|
| Coca cola*    | 102.8             |
| Rich cola*    | 77                |
| Vita cola*    | 32.4              |
| Cola light*   | 121               |
| Pepsi cola*   | 106.2             |
| Pepsi cola**  | 71.974            |
| Pepsi diet*   | 114.8             |
| Pepsi diet**  | 81.729            |

\* المصدر ١١

\*\* البحث الحالي

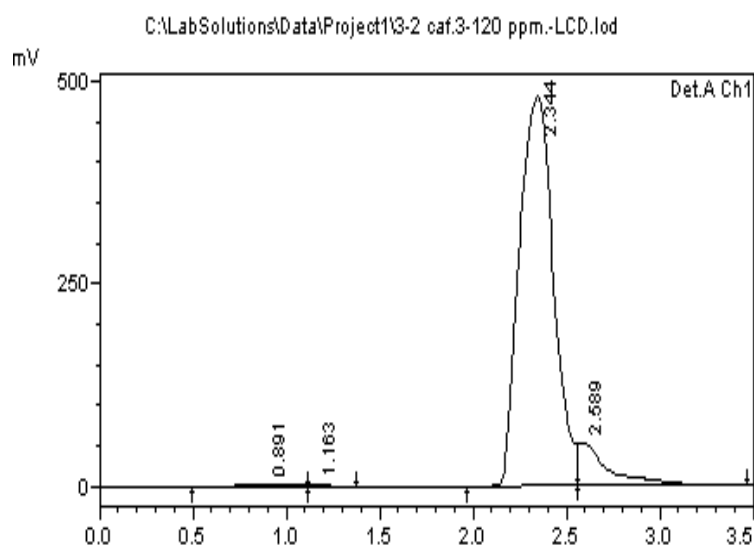
تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران



تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران



الشكل ٢- ثباتية زمن الاحتجاز لتراكيز مختلفة من الكافيين

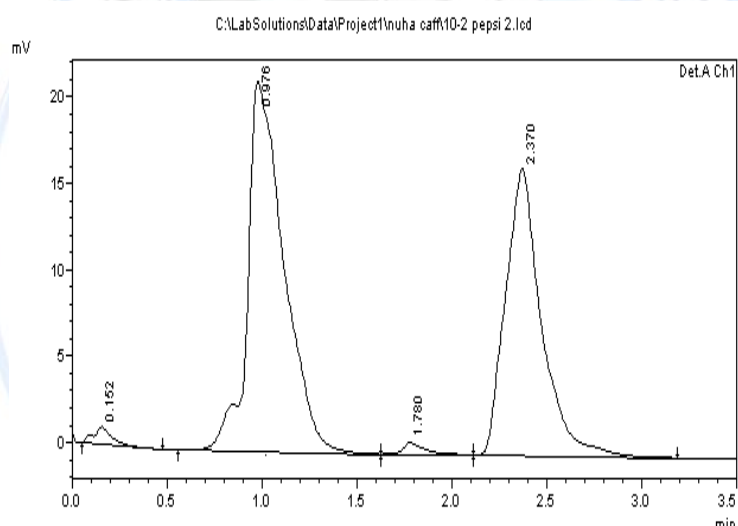


figure (a) pepsi diet

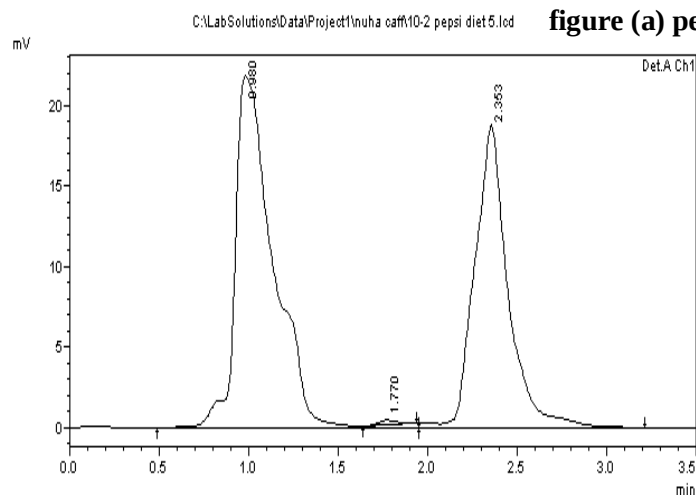


figure (b) pepsi

تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

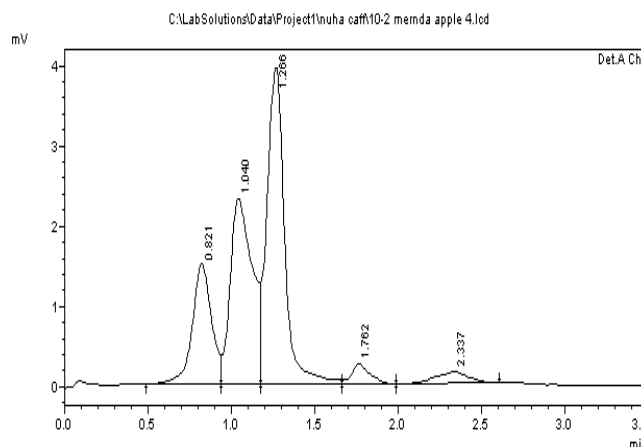


figure (c) meranda orange

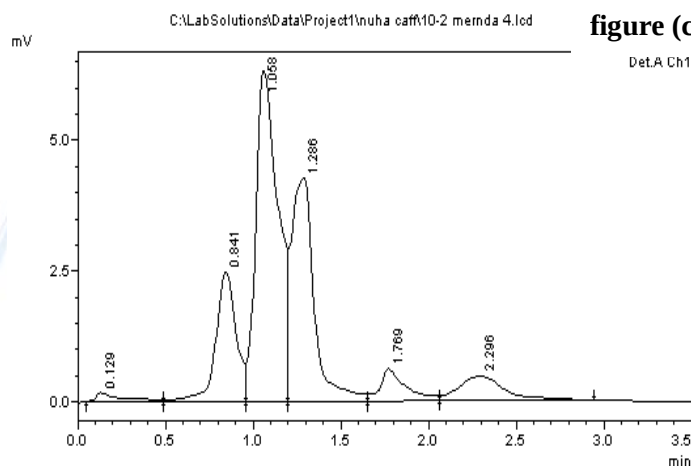


figure (d) meranda apple

الشكل ٣- مساحات القمم لمجموعة من المشروبات الغازية لشركة بغداد

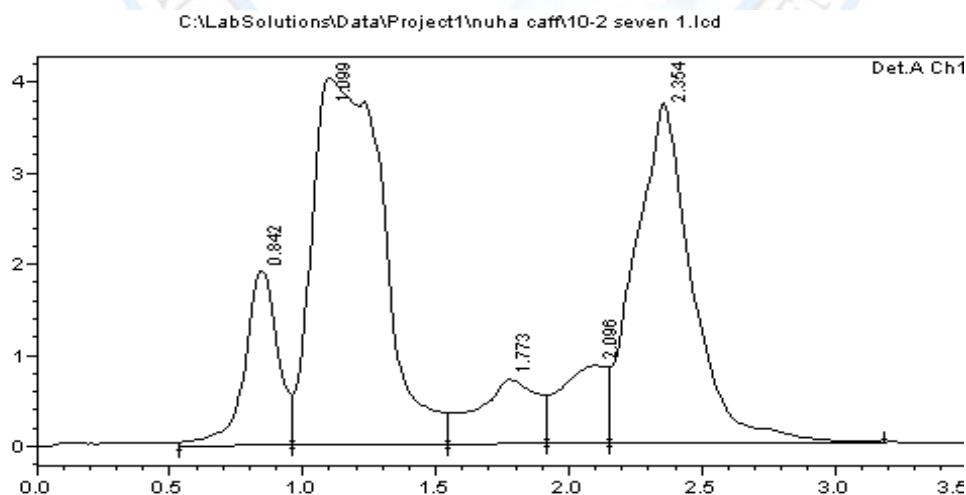


figure (a) seven

تقدير كمية الكافيين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران

C:\LabSolutions\Data\Project1\nuha caff\10-2 seven diet 2.lcd

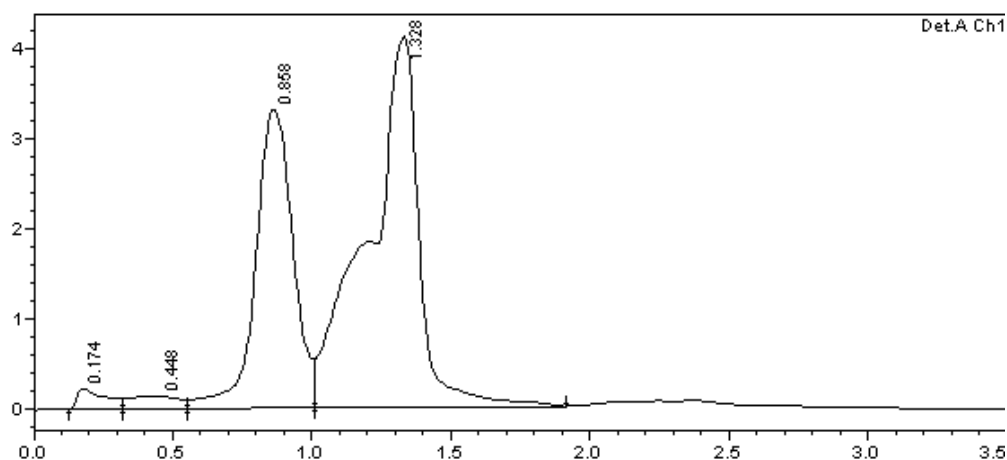


figure (b) seven diet

الشكل -٤- مساحات القمم لكل من السفن دايت والسفن لمشروبات شركة بغداد